

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :</b> <b>A61K 35/74</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:</b> <b>WO 99/26642</b> <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 3. Juni 1999 (03.06.99)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP98/07389 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 18. November 1998 (18.11.98)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 197 51 907.5      22. November 1997 (22.11.97)    DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> PHARMA-ZENTRALE GMBH [DE/DE]; Loeffeld- strasse 20, D-58313 Herdecke (DE).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> PROPPERT, Hans [DE/DE]; Rosenstrasse 102, D-58095 Hagen (DE).  <b>(74) Anwalt:</b> HARMSSEN & UTESCHER; Adenauerallee 28, D-20097 Hamburg (DE).		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> CZ, EE, HU, JP, LT, LV, NO, PL, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>
<b>(54) Title:</b> USE OF THE E.COLI STRAIN DSM 6601 FOR TREATING DIARRHOEA IN VETERINARY MEDICINE  <b>(54) Bezeichnung:</b> VERWENDUNG VON ESCHERICHIA COLI STAMM DSM 6601 ZUR BEHANDLUNG VON DIARRHOEEN AUF DEM VETERINÄRSEKTOR  <b>(57) Abstract</b>  The invention relates to the use of the Escherichia coli strain DSM 6601 to produce medicaments for preventing and treating microbially-caused diarrhoea involving pathogenic fungi in animals.  <b>(57) Zusammenfassung</b>  Die Erfindung betrifft die Verwendung von Escherichia coli Stamm DSM 6601 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Prophylaxe und Behandlung von mikrobiell bedingten Diarrhoeen unter Beteiligung von pathogenen Pilzen bei Tieren.		

### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

**Verwendung von Escherichia coli Stamm DSM 6601  
zur Behandlung von Diarrhoeen auf dem Veterinärsektor**

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Escherichia coli Stamm DSM  
5 6601 zur Prophylaxe und Behandlung von mikrobiell bedingten Diarrhoeen  
bei Tieren.

Unter Diarrhoeen bei Menschen oder Tieren wird die häufige Entleerung von  
dünnflüssigen Faeces verstanden, deren Ursache unterschiedlich sein kann  
10 wie beispielsweise eine allergische Reaktion auf bestimmte Nahrungsmittel,  
weist aber eine Reaktion auf Mikroorganismen, und zwar Bakterien, Pilze  
oder Viren oder deren Toxine. Länger dauernde Diarrhoeen können aufgrund  
des starken Wasser- und Salzverlustes zu schweren Komplikationen bis hin  
zum Exitus führen. Schwerere Diarrhoeen sind daher auf jeden Fall  
15 behandlungsbedürftig, insbesondere dann, wenn es sich um junge oder  
bereits geschwächte Menschen oder Tiere handelt.

In einem Großteil der Fälle werden Diarrhoeen durch Bakterien verursacht,  
die nicht zu der normalen Mikroorganismenflora des betreffenden Körpers  
20 gehören, wobei insbesondere bestimmte pathogene Stämme von Escherichia  
coli, Salmonellen und Shigellen eine Hauptrolle spielen. Neben Bakterien  
können Diarrhoeen aber auch ausgelöst werden durch Infektionen mit Viren,  
insbesondere Corona- und Rotaviren oder durch Pilze, die in den meisten  
Fällen zu den Eumykota gerechnet werden. Während bakteriell bedingte  
25 Diarrhoeen heute in der Regel durch die Gabe von Sorbentien oder  
nichtsystemischen Sulfonamiden oder Antibiotika recht gut bekämpft werden  
können, gibt es noch keine Arzneimittel, die erfolgreich bei Virusinfektionen

eingesetzt werden können und kaum Arzneimittel, die bei der Besiedlung des Magen-Darmtraktes mit Pilzen wirksam sind.

- Als Pilze bezeichnet man eine polyphylogenetische Gruppe von chlorophyll-
- 5 freien, heterotrophen und eukaryotischen Organismen, die ein- oder vielzellig sein können und deren Vermehrung wie bei allen Eukaryonten mit Mitose und Meiose verläuft und durch die Bildung geschlechtlicher oder ungeschlechtlicher Sporen, aber auch durch Sprossen. Die einzelligen, sich nur durch Sprossen fortpflanzenden Pilze werden häufig als Hefen zusammen-
- 10 gefaßt, obgleich die Hefen ein Konglomerat verschiedener Verwandtschaftskreise darstellen. Fast alle Eumykota, also die echten Pilze, durchlaufen während der Individualentwicklung zwei oder mehrere morphologisch unterscheidbare Stadien, nämlich als Teleomorphe, bei der die Sporen nach der Meiose gebildet werden und ein oder mehrere Stadien als Anamorphe,
- 15 bei denen die Sporenbildung nicht in Verbindung mit der Meiose steht. Pilze, deren Teleomorphe unbekannt sind oder die die Fähigkeit verloren haben, solche zu bilden, werden als Fungi imperfecti zusammengefaßt. Die genaue botanische Klassifikation ist bei den Pilzen häufig noch offen.
- 20 Aufgrund ihres Chlorophyllmangels ernähren sich alle Pilze heterotroph durch Abbau organischer Substanzen; sie sind also Saprophyten. Medizinisch unterscheidet man zwischen den Opportunisten, also Saprophyten, die selten und nur unter ganz bestimmten Bedingungen pathogen werden können und wozu beispielsweise Candida und Aspergillus gehören. Soge-
- 25 nannte pathogene Saprophyten führen exogen ein normales saprophytierendes Leben, aber sie sind für Menschen oder Tiere unter allen Umständen als pathogen zu betrachten, wenn eine Infektion stattgefunden

hat. Es gibt auch unter den Pilzen obligate Parasiten, die außerdem des Wirtsorganismus nicht vegetieren können und die nur beim Menschen oder beim Tier gefunden werden; hierzu gehören die meisten Dermatophyten.

- 5 Ein wesentlicher Unterschied zwischen Bakterien und Pilzen liegt in der Tatsache begründet, daß Pilze im Gegensatz zu Bakterien Eukaryonten sind, also über einen Kern mit Membran und außerdem im Gegensatz zu Bakterien auch über Mitochondrien verfügen und daß die Zellwand aus Chitin und/oder Cellulose besteht, während die Zellwand der Bakterien aus
- 10 Mucopeptiden aufgebaut ist. Dies erklärt auch, warum die meisten bei Bakterien wirksamen Antibiotika bei Pilzen versagen, denn bei vielen bekannten Antibiotika sind die Bakterienwand oder die Mitochondrien Hauptangriffspunkte dieser Stoffe.
- 15 Es gibt auch einige Antibiotika, die auch systemisch, also nicht nur topisch, gegen Pilzinfektionen eingesetzt werden können und die sich durch eine Polyenstruktur auszeichnen, wie beispielsweise Amphotericin B, Griseofulvin, Natamycin und Nystatin. Synthetische systemische Antimycotica sind Flucytosin und eine Reihe von Azolderivaten wie Ketoconazol und Miconazol oder Fluconazol und Itraconazol.
- 20

Während der genaue Wirkungsmechanismus der Polyenantibiotika noch nicht in allen Einzelheiten bekannt ist, wirken die synthetischen Azolderivate auf die Ergosterolsynthese in der Zellmembran und beeinflussen damit die

25 Durchlässigkeit der Zellwand.

Ein Nachteil aller bisher bekannten auch systemisch einsetzbaren Antimykotika besteht darin, daß sie in der Regel nicht fungizid, sondern nur fungistatisch wirken und damit eine längere Behandlungsdauer erforderlich machen. Weiterhin gibt es Kreuzresistenzen sowohl bei den Polyenantibiotika wie  
5 auch bei den Azolverbindungen und schließlich kommt hinzu, daß der Preis dieser Produkte relativ hoch ist, was einer breiten Anwendung in der Veterinärmedizin entgegensteht.

Es besteht daher noch ein weiteres Bedürfnis nach Veterinärarzneimitteln,  
10 die in der Lage sind, Diarrhoeen bei Tieren, die im wesentlichen oder auch durch die Mitbeteiligung von pathogenen Pilzen bedingt sind, wirksam bekämpfen zu können.

Völlig überraschend wurde jetzt festgestellt, daß bei Verwendung von  
15 *Escherichia coli* Stamm DSM 6601 derartige Diarrhoeen gut bekämpfbar sind, selbst wenn die sonst übliche Medikation mit pilzwirksamen Verbindungen versagt hat.

*Escherichia coli*, im folgenden als *E. coli* abgekürzt, fällt in zahlreichen  
20 Varianten an, die sich hinsichtlich der Kapselantigene, Oberflächenantigene und Flagellenantigene unterscheiden und daher in zahlreiche serologische Typen unterteilt werden können. Die Einordnung nach Serotypen besagt allerdings nichts über die unterschiedliche Virulenz der Erreger. Vertreter ein- und desselben Serotyps können sowohl im menschlichen als auch im  
25 tierischen Körper ein unterschiedliches Pathogenitätspotential besitzen, das im Extremfall von avirulent bis hochgradig pathogen reichen kann. Es ist allerdings bekannt, daß der *E. coli* Stamm DSM 6601 nicht als human- oder

tierpathogen bewertet wird. Dieser Stamm wird beispielsweise in der Humanmedizin als Substitutionpräparat bei infektiösen Darmerkrankungen durch Salmonellen oder Shigellen eingesetzt, und zwar sowohl bei akuten wie auch bei chronischen Fällen. Auch bei sonstigen Störungen der Darmflora wie z.B. nach Antibiotikabehandlung oder Bestrahlung wird dieser E. coli Stamm mit Erfolg in der Substitutionstherapie benutzt. Ob es sich dabei tatsächlich nur um die Verdrängung der pathogenen Bakterienstämme mit den entsprechenden Varianten von E. coli oder Proteus durch diesen speziellen E.-coli-Stamm handelt, also um eine Reduzierung der Toxine, oder ob die Stoffwechselprodukte des Stammes E. coli DSM 6601 von sich aus eine therapeutische Wirksam entfalten, ist nicht eindeutig geklärt.

Ausgehend von diesen bekannten Erklärungen zum Wirkungsmechanismus von lebenden E.-coli-Keimen war aber in keiner Weise zu erwarten, daß eine Behandlung mit diesen lebenden Kulturen eine überraschend umfassende Wirksamkeit bei der Infektion des Darmtraktes von Tieren mit Pilzen und hier insbesondere Hefen, zeigen würde. Zwar waren in den fünfziger Jahren apathogene E. coli Stämme in der Tiermedizin gelegentlich bei Erkrankungen von Rindern oder Schweinen, die zum Teil auch mit Diarrhoeen einhergingen, eingesetzt worden, aber dabei handelte es sich um die Therapie von Ernährungsstörung bei Ferkeln (Fischer W., Erfahrungen eines praktischen Tierarztes bei der Behandlung kranker Ferkel in den Jahren 1945 bis 1950; Dissertation, Universität München 1950) oder um die Behandlung der sogenannten Semperkrankheit bei Rindern, der nach den Ergebnissen dieser Veröffentlichung offensichtlich eine Mangelernährung aufgrund der Geologie des Gebietes zugrundelag (Häfele W., Die „Semperkrankheit“ eine Ernährungs- und Entwicklungsstörung des Rindes im Hochschwarzwald in der

Umgebung von St. Blasien; Dissertation, vet. med. Tierklinik, Universität München 1952). Diese frühen Versuche, bestimmte Coli-Stämme bei speziellen Erkrankungen von Schweinen oder Rindern versuchsweise einzusetzen, waren völlig vereinzelt und haben nicht einmal dazu Veranlassung gegeben, bei bakteriell bedingten Diarrhoeen weitere Versuche solcher Art zu unternehmen. Um so überraschender war die Feststellung, daß der E.-coli-Stamm DSM 6601 eine überraschende Wirkung auch bei Darmerkrankungen zeigt, die ausschließlich oder wesentlich mit durch Pilze bedingt sind, da die Bekämpfung von Pilzinfektionen, insbesondere wenn die Schleimhäute des Darmes betroffen sind, besonders schwierig ist, da die bei bakteriellen Infektionen eingesetzten Präparate praktisch keine Wirkung zeigen.

Bis heute hin ist über die normale Darmflora bei verschiedenen Tierarten überraschend wenig bekannt, aber ein Befall des Gastrointestinaltraktes mit Pilzen und insbesondere mit Hefen ist immer als pathologisches Geschehen zu deuten.

Die überraschend schnelle Wirksamkeit der Behandlung mit E. coli Stamm DSM 6601 läßt den Schluß zu, daß die Wirkung dieser Behandlung nicht oder nicht nur auf der Substitution der Pilzflora durch eine gesunde Bakterienflora beruht, sondern daß der Stamm in großem Maße zu einer Steigerung der körpereigenen Abwehrkräfte beiträgt, wobei vermutet werden kann, daß die Stoffwechselprodukte dieses Stammes eine beträchtliche immunstimulatorische Wirkung haben.

25

Im folgenden wird die Erfindung anhand eines Beispieles näher erläutert:



**Beispiel:**

In einer Milchviehanlage in Sachsen, die im Mittel über einen Tierbestand von 1.480 Milchkühen, 600 Färsen und Jungrindern und 185 Kälbern verfügt, war bis Anfang Januar 1997 der Kälberbestand durch sehr gute Aufzuchtsergebnisse, geringe Morbidität und Mortalität gekennzeichnet. Manifeste Magen- und Darmerkrankungen mit Durchfällen waren außerordentlich selten. Verluste an Kälbern lagen stets unterhalb der 3 %-Grenze, bezogen auf die Zahl der lebend geborenen Kälber.

10

Ende Januar 1997 kam es im Bestand plötzlich zum gehäuften Auftreten von Durchfällen mit klinisch markanten Symptomen einer Gastroenteritis. Die Erkrankungen begannen bei den Kälbern im Alter von sieben bis elf Tagen, waren von unterschiedlicher Dauer und durch eine Morbidität von mehr als 90 % und eine Mortalität von mehr als 10 % gekennzeichnet. Dabei war der Krankheitsverlauf durch folgende Symptome geprägt: anfänglich grünlich-gelblicher Durchfall mit dickbreiiger Konsistenz, danach wurde der Kot im weiteren Krankheitsverlauf schleimig, zunehmend dünnbreiig und meistens wässrig. Die Werte der Körpertemperaturen waren zu Beginn der Erkrankung leicht erhöht (39,7 bis 39,9° C), sanken dann aber im weiteren Verlauf rasch ab und erreichten nur noch untere Grenzen, teilweise im Bereich von 37,8 bis 37,5° C. Die erkrankten Kälber zeigten ausgeprägte Saugunlust und zunehmende Schwäche, so daß es im weiteren Krankheitsverlauf zum Festliegen kam. Schwerkranke Tiere mußte zwangsernährt werden.

25

Nach einer Krankheitsdauer von drei bis neun Tagen kam es zu immer höheren Verlusten. Die durchgeführten Sektionen zeigten übereinstimmend

höchst auffällige Befunde, nämlich einen flüssigen, flockigen bis leicht blutigen Darminhalt und hochgradige, geschwürige Vormagen- und Labmagenentzündungen. Im Monat April 1997 erreichte die Erkrankungshäufigkeit Werte von nahezu 100 % und die Mortalität stieg auf  
5 mehr als 15 %.

Die mikrobiologischen Untersuchungen des Magen- und Darminhaltes sowie der inneren Organe waren anfänglich ohne spezifische Ergebnisse, bis im Februar 1997 bei zwei verendeten Kälbern aus Magen- und Darminhalt  
10 Hefen der Gattung *Candida* (*C. glabrata* und *C. albicans*) isoliert wurden. Darmpathogene *E. coli* wurden nicht gefunden. Der Nachweis dieser Hefen gelang bei allen weiteren Sektionen der verendeten Kälber und bei den Untersuchungen von Kotproben von Kälbern und ihren Müttern. Weiterführende gezielte Untersuchungen von Kot- und Colostrumproben der Kühe und  
15 Färsen brachten gleiche Ergebnisse. Ergänzende Untersuchungen auf Viren, nämlich Corona- und Rotaviren, sowie auf *Cryptosporidien* ergaben nur in zwei Fällen bei verendeten Kälber Coronaviruspartikel und in einem Fall Rotaviren.

20 Die Herkunft der Hefen war lange Zeit nicht erklärbar, bis es im März 1997 bei der Untersuchung von als Futtermittel eingesetzten Biertrebern gelang, Hefen (*Candida glabrata* dominierend) in einem Umfang von  $3,6 \times 10^7$  KBE/g Futtermittel nachzuweisen.

25 Die von Anfang an umfangreich durchgeführten therapeutischen Maßnahmen wie Diättränken, Antiphlogistika, Styptica, Elektrolytika und Herz- und Kreislaufmittel führten nur zu unbefriedigenden Ergebnissen. Bei Anwendung

von Sulfonamiden und Antibiotika verendeten die Tiere sechs bis acht Stunden nach der Applikation. Nachdem diese Therapien erfolglos blieben, wurden Therapeutika, die Huminsäuren als wirksame Substanzen enthalten, eingesetzt. Auch diese Maßnahmen erbrachten keine erkennbaren  
5 Besserungen des Krankheitsgeschehens.

Von den in zwei Monaten vom 24. April bis 23. Juni 1997 lebend geborenen 236 Kälbern erkrankten alle Tiere, wobei 41 Tiere in diesem Zeitraum verendeten, was einem Anteil von 17,4 % entspricht, und zwar 29 Tiere  
10 durch Diarrhoeen entsprechend 70,7 % der Verluste und acht Tiere an Diarrhoeen mit begleitender Bronchopneumonie entsprechend 19,5 % der Verluste und vier Tiere aus sonstigen Gründen, entsprechend 9,8 % der Verluste.

15 Im Zeitraum vom 24. Juni 1997 bis 04. September 1997 wurde dann bei 300 neugeborenen Kälbern eine Suspension von lebenden E. coli Stamm DSM 6601 in einer Menge von täglich von 15,0 ml je Kalb entsprechend ... KBE/ml gegeben. Diese Dosis war unabhängig vom Gewicht und Alter des Tieres und wurde oral appliziert, und zwar während einer Zeitdauer von 10  
20 bis 13 Tagen post partum. Im Zeitraum vom 24. Juni bis 08. Juli 1997 wurden in dieser Weise 61 Kälber behandelt, von denen zwei an einer Diarrhoe erkrankten, was einer Morbidität von 3,3 % entspricht. Keines der Tiere verendete an dieser Krankheit.

25 Im Zeitraum vom 09. Juli bis 23. Juli 1997 wurden 49 Kälber entsprechend behandelt, von denen keines an einer Gastroenteritis mit Diarrhoe erkrankte. Die Mortalität an dieser Erkrankung betrug also 0 %.

Im Zeitraum vom 23. Juli bis 06. August 1997 wurden 64 Kälber behandelt, von denen zwei an einer Diarrhoe erkrankten, was einer Morbidität von 3,1 % entspricht. Keines der Tiere verendete an dieser Erkrankung, so daß inso-  
5 weit die Mortalität gleich 0 ist.

Nachdem alle vorhandenen therapeutischen Möglichkeiten ausgeschöpft waren, konnte durch die prophylaktische und therapeutische Anwendung einer E. coli Stamm DSM 6601-Suspension das Auftreten von Diarrhoeen  
10 aufgrund von Gastroenteritiden bei Saugkälbern nahezu vollständig verhindert werden.

Der Einsatz von anderen Arzneimitteln und Diätetika konnte erheblich reduziert werden, so daß die dafür aufzuwendenden Kosten sich um 70 %  
15 verringerten.

**Patentansprüche**

1. Verwendung von Escherichia coli Stamm DSM 6601 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Prophylaxe und Behandlung von mikrobiell bedingten Diarrhoeen unter Beteiligung von pathogenen Pilzen bei Tieren.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Patent Application No.

PCT/EP 98/07389

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 6 A61K35/74

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols):  
IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim no.
Y	LODINOVA-ZADNIKOVA R AND SONNENBORN U: "Effect of preventive administration of a nonpathogenic Escherichia coli strain on the colonization of the intestine with microbial pathogens in newborn infants" BIOLOGY OF THE NEONATE, vol. 71, 1997, pages 224-232, XP002097854 see the whole document	1
Y	KRUIS W ET AL.: "Einsatz von Probiotika in der Humanmedizin" DIE MEDIZINISCHE WELT, 1996, pages 53-57, XP002097855 see the whole document	-
Y	WO 96 13271 A (METAGENICS INC) 9 May 1996 see the whole document	-
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex

**\* Special categories of cited documents:**

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 March 1999

Date of mailing of the international search report

09/04/1999

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Knehr, M

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 98/07389

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BLUM ET AL: "Properties of Escherichia coli strains of serotype 06" PLASMID, vol. 23, no. 4, July 1995, pages 234-236, XP002085750 see the whole document	
P,X	DE 196 37 936 A (CHMIEL HORST ;LEHR CLAUS MICHAEL PROF DR (DE)) 9 April 1998 see the whole document	1
P,X	GEORG K J AND SCHLORER E: "Probiotische Therapie einer pseudomembranösen Kolitis. Kombination aus intestinaler Lavage und oralen Gabe von Escherichia coli" DEUTSCHE MEDIZINISCHE WOCHENSCHRIFT, vol. 123, no. 43, 1998, pages 1274-1284, XP002097856 see the whole document	1
P,X	WO 98 26787 A (ARNOTT S BISCUITS LTD ;BURNS PHILP & COMPANY LIMITED (AU); CONWAY) 25 June 1998 see the whole document	1

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/EP 98/07389

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9613271 A	09-05-1996	US 5531988 A	02-07-1996
		US 5531989 A	02-07-1996
		AU 4013695 A	23-05-1996
		CA 2203762 A	09-05-1996
		EP 0787006 A	06-08-1996
		US 5744134 A	28-04-1998
DE 19637936 A	09-04-1998	NONE	
WO 9826787 A	25-06-1998	AU 5396198 A	15-07-1998



A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 6 A61K35/74

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RESEARCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 6 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	LODINOVA-ZADNIKOVA R AND SONNENBORN U: "Effect of preventive administration of a nonpathogenic Escherichia coli strain on the colonization of the intestine with microbial pathogens in newborn infants" BIOLOGY OF THE NEONATE, Bd. 71, 1997, Seiten 224-232, XP002097854 siehe das ganze Dokument	1
Y	KRUIS W ET AL.: "Einsatz von Probiotika in der Humanmedizin" DIE MEDIZINISCHE WELT, 1996, Seiten 53-57, XP002097855 siehe das ganze Dokument	1
Y	WO 96 13271 A (METAGENICS INC) 9. Mai 1996 siehe das ganze Dokument	1



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

24. März 1999

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

09/04/1999

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Knehr, M

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	BLUM ET AL: "Properties of Escherichia coli strains of serotype 06" PLASMID, Bd. 23, Nr. 4, Juli 1995, Seiten 234-236, XP002085750 siehe das ganze Dokument -----	
P,X	DE 196 37 936 A (CHMIEL HORST ;LEHR CLAUS MICHAEL PROF DR (DE)) 9. April 1998 siehe das ganze Dokument -----	1
P,X	GEORG K J AND SCHLORER E: "Probiotische Therapie einer pseudomembranösen Kolitis. Kombination aus intestinaler Lavage und oralen Gabe von Escherichia coli" DEUTSCHE MEDIZINISCHE WOCHENSCHRIFT, Bd. 123, Nr. 43, 1998, Seiten 1274-1284, XP002097856 siehe das ganze Dokument -----	1
P,X	WO 98 26787 A (ARNOTT S BISCUITS LTD ;BURNS PHILP & COMPANY LIMITED (AU); CONWAY) 25. Juni 1998 siehe das ganze Dokument -----	1

# INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/07389

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9613271 A	09-05-1996	US 5531988 A	02-07-1996
		US 5531989 A	02-07-1996
		AU 4013695 A	23-05-1996
		CA 2203762 A	09-05-1996
		EP 0787006 A	06-08-1996
		US 5744134 A	28-04-1998
DE 19637936 A	09-04-1998	KEINE	
WO 9826787 A	25-06-1998	AU 5396198 A	15-07-1998

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**